Биомедицинская химия, 2006, том 52, вып. 2, с. 219-222.

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

УДК 577.27:591.81

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КЛЕТКАХ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

Т.П. Вавилова[1], О.Н. Гева[1], А.В. Пушкина[2], Г.А. Ткачев[1], Н.А. Корецкая[1]

[1]Московский государственный медико-стоматологический университет, 103473, Москва, ул. Делегатская, д. 20/1; тел.: (495)365-54-97; эл. почта: tpvavilova@yandex.ru

[2]ООО “Компания “Фесфарм”, Москва, ул. Кременчугская, д.6, кор.3; тел.: (495) 445-46-73; эл. почта: anna pushkina 66@mail.ru

Одним из основных осложнений у пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (тХПН), получающих лечение гемодиализом (ГД), остается анемия. Мы предположили, что оксидативный стресс, характеризующийся увеличением активных форм кислорода и снижением активности ферментов антиоксидантной защиты, является причиной функциональной недостаточности эритроцитов и их преждевременного разрушения. Исследовали цельную кровь 16 пациентов, получающих амбулаторный ГД. Коррекция анемии проводилась всем пациентам путем введения препарата “Рекормон”. В лизате эритроцитов определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР). Активность СОД и ГПО эритроцитов была статистически достоверно снижена, ГР находилась в пределах нижней границы нормы. Полученные результаты показали, что у пациентов, получающих программный ГД, имеется выраженное снижение антиоксидантной способности эритроцитов, которое связано с тяжестью анемии. Повторное исследование активности ферментов антиоксидантной защиты крови через 6 месяцев у тех же пациентов показало дальнейшее снижение активности СОД и ГР.

Ключевые слова: терминальная стадия хронической почечной недостаточности, гемодиализ, оксидативный стресс, ферменты антиоксидантной защиты.

Во всем мире хронические заболевания почек представляют собой серьезную проблему здравоохранения. Это определяется тенденцией неуклонного роста числа больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН), характерной для всех стран мира [1]. Формирование терминальной стадии ХПН требует применения экстракорпорального очищения крови с использованием аппарата “Искусственная почка” - процедуры гемодиализа (ГД).

Большинство пациентов, получающих ГД в России – наиболее трудоспособные лица в возрасте от 19 до 65 лет (91%) [2]. Однако лечение ГД сопряжено со снижением качества жизни пациентов, повышением их заболеваемости и смертности. Одним из основных осложнений у пациентов с терминальной стадией ХПН (тХПН), получающих лечение ГД, остается анемия.

Ведущими патогенетическими факторами развития анемии у больных с хроническими заболеваниями почек является уменьшение продукции эритропоэтина (ЭПО) перитубулярными клетками почечного интерстиция и уремическая интоксикация [3, 4]. Однако, несмотря на введение рекомбинантного эритропоэтина, у всех пациентов с тХПН количество эритроцитов остается сниженным, а продолжительность их жизни сокращается [4, 5].

Причинами функциональной недостаточности и преждевременного разрушения эритроцитов могут быть: 1) накопление в крови уремических больных большой группы веществ, способных ингибировать гемопоэз и провоцировать гемолиз (например, продуктов распада аминокислот – мочевины, кадаверина, путресцина, метилгуанидина и др.); 2) развитие оксидативного стресса, который характеризуется увеличением количества активных форм кислорода, продуктов свободнорадикального окисления липидов и снижением активности ферментов антиоксидантной защиты.

В связи с выше изложенным, целью исследования явилось изучение активности ферментов антиоксидантной защиты крови у пациентов, получающих ГД, и, их связь со степенью тяжести анемии и уремической интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Исследовали цельную кровь 16 пациентов, средний возраст которых 45±16 лет, находящихся на лечении ГД в амбулаторном центре “Фесфарм” (Москва). Все пациенты получали амбулаторный гемодиализ по стандартной программе 3 раза в неделю по 4-4,5 часа с использованием бикарбонатного диализирующего раствора и поволоконных диализаторов (материал мембраны – гемофан). Обеспеченная доза диализа (Индекс KT/V) составила 1,5±0,3; процент удаления мочевины - 70±4%. Коррекцию анемии проводили путем введения подкожно препарата ЭПО “Рекормон” в дозе ЭПО 62,7±30,3 (Ед/кг веса/нед.) (“Hoffmann-La Roche”, Швейцария). В группу контроля (КГ) входили 15 практически здоровых добровольцев, средний возраст которых 41±9 лет.

В лизате эритроцитов пациентов с тХПН определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) [6], глутатионпероксидазы (ГПО) [7] и глутатионредуктазы (ГР) [8], используя наборы реактивов фирмы “RANDOX” (Великобритания).

Содержание гемоглобина в цельной крови определяли гемихромным методом.

Статистическую обработку данных проводили в программе CTATISTICA 6.0. Результаты до и после ГД сравнивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона. Связь признаков оценивали с помощью линейной корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Данные о числе эритроцитов, содержании гематокрита (Ht) и гемоглобина (Hb) в исследуемых группах представлены в таблице 1.

Таблица 1. Состояние эритропоэза у пациентов с тХПН, получающих амбулаторный ГД.

Показатель / Группы	Пациенты с тХПН	Контрольные
Hb (г/л)	112,5±6,4*	134,8±12,7
Ht (%)	34,3±2,2*	41,5±7,1
Hb/Ht	3,4±0,1*	2,9±0,1
Количество эритроцитов (млн.)	3,8±0,3	4,8±0,6

Примечание: * - достоверность различий показателей p<0,05 по сравнению с контрольной группой.

Согласно этим данным, у пациентов с тХПН, получающих ГД, снижены количество эритроцитов, гемоглобина и показатель эритропоэтина, но повышен коэффициент Hb/Ht, что свидетельствует об ускоренном разрушении и обновлении эритроцитов. Активность антиоксидантных ферментов СОД, ГПО у этих больных статистически достоверно была снижена по сравнению с контрольной группой. Активность ГР находилась в пределах нормы (табл. 2).

Таблица 2. Активность антиоксидантных ферментов крови у пациентов с тХПН (Е/г Hb).

Показатель / Группы	Пациенты с тХПН		Контрольные
	до ГД	после ГД	
СОД (Е/г Hb)	$532 \pm 178^{*1}$	$544 \pm 248^{*1}$	1352±249
ГПО (Е/г Hb)	$15,4 \pm 10,8^{*1}$	$12,7 \pm 7,70^{*1}$	56±26,6
ГР (Е/г Hb)	6,60±3,40	6,20±2,07	8,95±4,25
Креатинин (мкмоль/л)	$857 \pm 244^{*1}$	$410 \pm 212^{*2}$	104±29
Мочевина (ммоль/л)	$24,3 \pm 5,20^{*1}$	$6,5 \pm 2,4^{*2}$	6,4±2,0

Примечание: $*^{1}$ - достоверность различий показателей $p<0,05$ по сравнению с контрольной группой; $*^{2}$ - достоверность различий показателей $p<0,05$ по сравнению с уровнем до гемодиализа.

Проведение корреляционного анализа выявило слабые прямые положительные статистически достоверные ($p<0,05$) взаимосвязи для уровня гемоглобина и активности СОД и ГПО у пациентов с тХПН (r Spearmen=0,6; r Spearmen=0,5 соответственно). Полученные результаты показывают, что у пациентов с тХПН, получающих амбулаторный ГД, имеется выраженное снижение антиоксидантной способности форменных элементов крови. Аналогичные результаты получены другими авторами [9-11]. Низкая активность антиоксидантных ферментов приводит к дисбалансу между продукцией активных форм кислорода и их нейтрализацией. В результате происходит окислительное повреждение клеток и усугубление состояния оксидативного стресса у пациентов с тХПН, получающих амбулаторный ГД [10, 12, 13].

После сеанса ГД концентрация креатинина в крови у больных тХПН уменьшалась в 2 раза, а уровень мочевины становился сопоставимым со значениями, полученными у здоровых лиц (табл. 2). Сравнение показателей СОД, ГПО и ГР крови пациентов до и после ГД не выявило между ними статистически значимых различий, что согласуется с данными других авторов [12]. Это свидетельствует о том, что процедура гемодиализа не оказывала заметного влияния на активность ферментов антиоксидантной защиты.

Повторное исследование активности ферментов антиоксидантной защиты крови через 6 месяцев у тех же пациентов показало, что активность ГПО у исследуемых пациентов практически не изменилась. Значения активности СОД и ГР составляли 423±31 Е/г Hb и 4,87±0,75 Е/г Hb соответственно, что ниже данных первичного обследования (табл. 2) в среднем на 20%. Можно предположить, что снижение активности этих ферментов может привести к развитию дальнейших осложнений у уремических больных .

ЛИТЕРАТУРА

1. *Земченков А.Ю., Томилина Н.А.* (2004) Нефрология и диализ, **6**, 204-220.
2. *Бикбов Б.Т., Томилина Н.А.* (2005) Нефрология и диализ, **7**, 204-275.
3. *Храйчик Д.Е., Седор Д.У., Ганц М.Б.* (2001) Секреты нефрологии, М.-СПб. “БИНОМ-Невский диалект”.
4. *Ермоленко В.М.* (1995) Почки и кроветворение. Нефрология. (ред. И.Е. Тареева), М. Медицина, т. **1**, с. 91-106.

5. *Eckardt K.U.* (2000) Clin. Nephrol., **53**, 2-8.
6. *Woolliams J.A., Wiener G., Anderson P.H., McMurray C.H.* (1983) Res. .Sci., **34**, 253-256.
7. *Paglia D.E., Valentine W.N.* (1967) J. Lab. Clin. Med., **70**, 158.
8. *Goldberg D.M., Spooner R.J.* (1983) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer H.U. ed.) 3rd edn, vol. **3**, pp. 258-265, Verlog Chemie, Deerfield Beach, Fl.
9. *Dascher M., Lanhartz H., Botticher D. et al.* (1996) Kidney Int., **50**,1268-1272.
10. *Jackson P., Loughrey C.M., Lightbody J.H. et al.* (1995) Clin. Chem., **41**, 1135-1138.
11. *Tutal E., Sezer S., Turkoglu S. et al.* (2005) ERA-ETDA, Abstract Book, p.129.
12. *Wu C.-C., Chen J.-S., Wu W.-M. et al.* (2005) Nephrol. Dial. Transplant., **20**, 1134-1139.
13. *Siems W., Carluccio F., Grune T.* (2002) Clin. Nephrol., **58**, Suppl. 1, 20-25.

Поступила: 02. 11. 2005.

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE OF ANTIOXIDANT ENZYME ASSAY IN ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH END STAGE RENAL DISEASE TREATED WITH HEMODIALYSIS

T.P. Vavilova[1], O.N. Geva[1], A.V. Pushkina[2], G.A. Tkachev[1], N.A. Koretskaya[1]

[1]Moscow State Medical Stomatological University, Delegatskaya ul., 20/1, Moscow, 103473 Russia; tel.: +7 495 3655497; e-mail: tpvavilova@yandex.ru
[2]Fespharm, Kremenchugskaya ul., 6, bld. 3; Moscow, Russia; tel.: +7 495 445-46-73; e-mail: anna.pushkina 66@mail.ru

Anemia is one of the main complications seen in patients with end stage renal disease (ESRD) treated with hemodialysis. We hypothesized that oxidative stress and decrease of antioxidant defense enzyme activity may be major causes underlying functional insufficiency of erythrocytes. Blood samples of 16 patients with ESRD undergoing hemodialysis were investigated. All patients received Recormon for treatment of anemia. In spite of effective hemodialysis procedures cleared patient blood the erythrocyte activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GP) were lower than in healthy controls and hemodialysis procedure insignificantly influenced enzyme activities. After 6 months repeated study of the erythrocyte enzymes revealed further decrease of SOD and GP activities.

Key words: end stage of chronic renal disease**,** hemodialysis, oxidative stress, enzymes of antioxidant defense.